

# D Vitamini Eksikliği Olan Yetişkinlerde Paraoksonaz ve Arilesteraz Aktiviteleri

## Paraoxonase and Arylesterase Activities In Adults with Vitamin D Deficiency

Filiz Alkan Baylan, Metin Kılınç, Yeliz Doboğlu, Hatice Sağer

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD.

Yazışma Adresi / Correspondence:

**Filiz Alkan Baylan**

Sütçü İmam Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Kahramanmaraş

T: +90 544 470 43 28 E-mail : drfilizalkan@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 12.04.2021 Kabul Tarihi / Accepte: 05.07.2021

Orcid :

Filiz Alkan Baylan <https://orcid.org/0000-0003-3117-7768>

Metin Kılınç <https://orcid.org/0000-0002-1623-0201>

Yeliz Doboğlu <https://orcid.org/0000-0001-5874-0368>

Hatice Sağer <https://orcid.org/0000-0002-5937-6884>

( Sakarya Tıp Dergisi / Sakarya Med J 2021, 11(3):571-575 ) DOI: 10.31832/smj.913255

### Öz

|                    |  |
|--------------------|--|
| Amaç               | Bu çalışmanın amacı, D vitamini eksikliği olan erişkinlerde oksidatif stres ve kardiyovasküler hastalıklar için risk belirteci olan Paroksonaz (PON), Arilesteraz (ARE) ve Lipoprotein a (Lp (a)) düzeylerini değerlendirmektir.   |
| Gereç ve Yöntemler | Çalışmaya D vitamini eksikliği olan 43 hasta ve benzer demografik özelliklere sahip olan 37 sağlıklı birey dahil edildi. 25 (OH) D'nin 20 ng/mL' nin altında olması D vitamini eksikliği olarak kabul edildi. Gruplar arasında PON-1, ARE enzim aktiviteleri, Lp (a) ve serum lipid düzeyleri karşılaştırıldı. |
| Bulgular           | D vitamini eksikliği olan hastalarda PON aktivitesi sağlıklı kontrol grubuna göre düşük bulundu. Gruplar arasında ARE aktivitesi ve Lp (a) benzer düzeylerdeydi. D vitamini ile PON arasında pozitif yönde bir ilişki gözlemlendi.   |
| Sonuç              | D vitamini eksikliği olan grup daha düşük PON-1 aktivitesine sahipti. D vitamini eksikliğini neden olduğu oksidatif stres artışına, LDL düzeylerindeki artış ve HDL düzeyindeki azalma ile birlikte PON-1 aktivitesinin düşüklüğünün neden olabileceği düşünüldü.  |
| Anahtar Kelimeler  | D vitamini; Paroksonaz; Arilesteraz; Lipoprotein a   |

### Abstract

|                       |   |
|-----------------------|---|
| Objective             | The aim of this study was to evaluate Paroxonase (PON), Arylesterase (ARE) and Lipoprotein a (Lp (a)) levels, which are risk markers for oxidative stress and cardiovascular diseases in adults with vitamin D deficiency.  |
| Materials and Methods | 43 patients with vitamin D deficiency and 37 healthy individuals with similar demographic characteristics were included in the study. A 25 (OH) D below 20 ng / mL was considered a vitamin D deficiency. PON-1, ARE enzyme activities, Lp (a) and serum Lipid levels were compared between the groups. |
| Results               | PON activity in patients with vitamin D deficiency was found to be lower than healthy control group. ARE activity and Lp (a) were similar between the groups. A positive correlation was observed between vitamin D and PON.  |
| Conclusion            | The vitamin D deficient group had lower PON-1 activity. It was thought that the increase in oxidative stress caused by vitamin D deficiency may be caused by the increase in LDL levels and the decrease in HDL levels together with the decrease in PON-1 activity.                                    |
| Keywords              | Vitamin D; Paroxonase; Arylesterase; Lipoprotein a  |

## GİRİŞ

D vitamini, bir steroid hormon yapısında, yağda çözünen bir vitamindir. Mineral homeostazisinde ve iskelet sisteminde önemli rollere sahiptir. Son yıllarda çeşitli önemli fonksiyonlarının ortaya konmasından sonra D vitamini eksikliğinin (<20 ng/ml) küresel boyutta bir sağlık problemi olarak karşımıza çıktığı görülmektedir.<sup>1</sup> D vitamini eksikliği raşitizm, osteomalazi, osteoporoz gibi kemik hastalıklarının yanında deri hastalıkları, kanser, otoimmün hastalıklar ve kardiyovasküler hastalıklar gibi patolojik durumlarla ilişkilendirilmiştir.<sup>2-5</sup> Pek çok çalışmada, düşük D vitamini ile kardiyovasküler hastalık arasındaki ilişkinin, D vitamininin lipid düşürücü etkisiyle ilişkili olduğu savunulmuştur.<sup>6-8</sup> Aynı zamanda D vitamininin oksidatif strese karşı koruyucu etkisinin olduğu bilinmektedir.<sup>9,10</sup> Paraoksonaz 1 (PON1), detoksifikasyon dahil önemli fizyolojik fonksiyonlara sahip yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterole bağlı bir enzimdir. Antioksidan özelliklere sahiptir ve karaciğer tarafından sentezlenir. PON1; PON, diazoksonaz ve arilesteraz (ARE) aktivitelerine sahip çok işlevli bir enzimdir. PON1 enzimi, makrofajlardan süperoksit anyon salınımını inhibe ederek LDL oksidasyonunu önler ve okside-LDL (oxLDL) oluşumunu azaltır. Böylece endotel hücrelerde oxLDL'ye bağlı oluşan inflamasyon süreci engellenmiş olur.<sup>11</sup> Lipoprotein a (Lp (a)) konsantrasyonları farklı etnik popülasyonlarda büyük ölçüde değişiklik gösterse de<sup>12</sup>, koroner kalp hastalıkları için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir.<sup>13,14</sup>

D vitamini eksikliği olan hastalarda PON ve ARE düzeyi, bu tür eksiklikte yer alan altta yatan biyokimyasal mekanizmaları netleştirmeye yardımcı olabilir. Bu çalışmanın amacı, D vitamini eksikliği olan erişkinlerde PON ve ARE enzim aktivitelerini araştırmak, D vitamini eksikliğinin oksidatif stres ve kardiyovasküler hastalıklar için risk belirteci olan PON-1, ARE ve Lp (a) üzerindeki etkilerini değerlendirmektir.

## GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışmamıza D vitamini eksikliği olan 43 hasta ve benzer

demografik özelliklere sahip olan 37 sağlıklı birey dahil edildi. Serum 25-hidroksivitamin D [25 (OH) D] seviyeleri Mart-Eylül ayları arasında ölçüldü. 25 (OH) D'nin 20 ng/mL' nin altında olması D vitamini eksikliği olarak kabul edildi. Bilinen kardiyovasküler, serebrovasküler hastalığı, konjestif kalp yetmezliği, akut ya da kronik karaciğer hastalığı, her hangi bir malignitesi, diyabeti olan hastalar ile gebeler, sigara ve alkol kullananlar, D vitamini kullananlar, D vitaminin metabolizması üzerine etki eden lipid ya da glikoz metabolizması üzerine etki eden ilaç kullanımı olanlar çalışmadan dışlandı. Çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulu tarafından 14.10.2020 tarih ve 2/357 karar numarası ile onaylandı. Tüm katılımcılardan bilgilendirilmiş onam alındı.

Araştırmaya dahil olan bireylerden en az sekiz saatlik açlık süresi sonrasında rutin tetkikleri için eş zamanlı olarak 10 mL kan alındı. Örnekler 4°C'de 2500 rpm devirde 10 dakika santrifüj edilerek serum ayrıldı. EDTA'lı tüplere alınan kandan ayrılan plazmada 25-OH D vitamini Thermo scientific ultimate 3000 cihazında (Mundelein, USA) ultra HPLC ölçüm yöntemi ile ölçüldü. PON, ARE ve Lp (a) ölçümü için ayrılan serumlar çalışma zamanına kadar -80°C'de saklandı. PON ve ARE (Rel Assay Diagnostic, Mega Tıp, Gaziantep, Turkey) ticari kit kullanılarak kolorimetrik prensiple otomatik analizörde, Lp (a) ise ELİSA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (Rel Assay Diagnostic, Mega Tıp, Gaziantep, Turkey) ticari kitleri ile kit prosedürlerine uygun şekilde ölçüldü. Serum lipid (total kolesterol, LDL, HDL ve trigliserid) düzeyleri ise fotometrik yöntemle Roche Cobas C702 cihazında ölçüldü.

Verilerin değerlendirilmesinde değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren değişkenlerde 2 grup karşılaştırmaları Student T-Testi, göstermeyen değişkenlerde 2 grup karşılaştırmaları Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirildi. Parametreler arasındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık p<0.05 olarak kabul edildi. İstatistik parametreleri Median (min-max)

ve ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Veriler IBM SPSS Statistics for Windows (IBM SPSS for Windows version 22, IBM Corporation, Armonk, New York, United States) ile değerlendirildi.

### BULGULAR

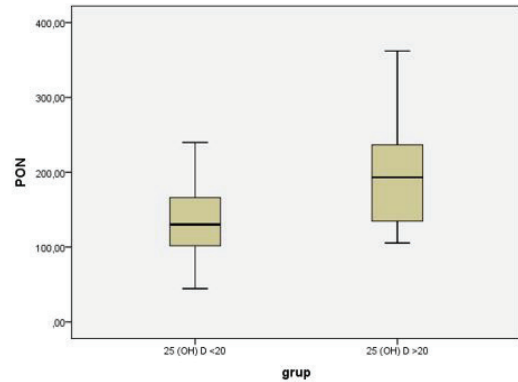
Çalışmadaki D vitamini eksikliği grubunun medyan yaşı 37, kontrol grubunun ise 39 idi. Gruplar arasında yaş ve cinsiyetleri açısından anlamlı bir fark yoktu (sırasıyla p=0,689, p=0,241; Tablo 1). PON-1 değerleri D vitamini eksikliği olan grupta 136,88±47,05 U/L iken kontrol grubunda 198,04±69,80 U/L olmak üzere aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı. (p <0,001; Tablo 2, Şekil 1). ARE ve Lp (a) değerleri ise hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık göstermedi (sırasıyla p=0,060, p=0,079; Tablo 2). Total Kolesterol ve LDL düzeyleri D vitamini eksikliği grubunda yüksek iken (p<0,001; Tablo 2). HDL düzeyleri düşük bulundu (p=0,042; Tablo 2).

| Özellikler  | D Vitamini Eksikliği Olan Grup (n=43) | Kontrol Grubu (n=37) | p      |
|---|---------------------------------------|----------------------|--------|
| Yaş (yıl)   | 37(20-66)                             | 39(16-69)            | 0,689* |
| Cinsiyet n, (%)   |                                       |                      |        |
| Erkek   | 7 (16.3)                              | 10 (27)              | 0,241† |
| Kadın   | 36 (83.7)                             | 27 (73)              |        |
| *Mann-Whitney U test. (Değerler medyan(minimum-maksimum) olarak ifade edildi.)<br>† Chi-square test |                                       |                      |        |

Çalışmada D vitamini ile PON arasında zayıf düzeyde pozitif yönlü bir ilişki vardı (r=0,351, p=0,001). D vitamini ile Total kolesterol arasında orta düzeyde negatif bir ilişki varken (r=-0,508, p<0,001) D vitaminin ile LDL arasında zayıf düzeyde negatif bir ilişki vardı.(r=-0,347, p=0,002 sırayla) (Tablo 3).

| Laboratuvar Parametreleri | D Vitamini Eksikliği olan grup (n=43) | Kontrol grubu (n=37) | P       |
|---------------------------|---------------------------------------|----------------------|---------|
| 25(OH) D vitamini (ng/mL) | 8,72 (3,00-19,00)                     | 27,00 (21,00-88,00)  | <0,001* |
| Total Kolesterol (mg/dL)  | 190,00±24,61                          | 158,32±12,57         | <0,001* |
| LDL (mg/dL)               | 128,00 (73,00-167,00)                 | 95,00 (72,00-164,00) | <0,001* |
| HDL (mg/dL)               | 55,00±6,83                            | 59,00±9,37           | 0,042*  |
| TG (mg/dL)                | 129,44±41,15                          | 118,73±42,33         | 0,255   |
| PON (U/L)                 | 136,88±47,05                          | 198,04±69,80         | <0,001* |
| ARE (U/L)                 | 70,79±16,29                           | 63,55±17,71          | 0,060   |
| Lp (a) (mg/dL)            | 7,94 (4,59-15,20)                     | 7,35(2,18-10,08)     | 0,079   |

Sayısal değişkenler, normallik dağılımına göre ortalama ± standart sapma veya medyan (min-maks) olarak ifade edildi.  
Mann Whitney U testi/Student t Testi: α:0.05; \* Anlamlı LDL; Düşük-Dansititeli Lipoprotein, HDL; Yüksek-Dansititeli Lipoprotein, TG; Trigliserid, PON; Paroksonaz-1, ARE; Arilesteraz, Lp (a) ; Lipoprotein a



Şekil 1. Çalışma Gruplarının Paraoksonaz Seviyeleri

|                          | 25(OH) D Vitamini (ng/mL) |         |
|--------------------------|---------------------------|---------|
|                          | r                         | p       |
| Total Kolesterol (mg/dL) | -0,508                    | <0,001* |
| LDL (mg/dL)              | -0,347                    | 0,002*  |
| HDL (mg/dL)              | 0,131                     | 0,248   |
| TG (mg/dL)               | -0,030                    | 0,791   |
| PON (U/L)                | 0,351                     | 0,001*  |
| ARE (U/L)                | -0,096                    | 0,396   |
| Lp (a) (mg/dL)           | -0,148                    | 0,191   |

r; Spearman'ın rho korelasyon katsayısı.  
LDL; Düşük-Dansititeli Lipoprotein, HDL; Yüksek-Dansititeli Lipoprotein, TG; Trigliserid, PON; Paroksonaz-1, ARE; Arilesteraz, Lp (a) ; Lipoprotein a

## TARTIŞMA

Bu çalışmada D vitamini durumu ile PON, ARE, Lp (a) ve lipid düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık. D vitamini eksikliği olan hastalarda PON aktivitesi sağlıklı kontrol grubuna göre düşük iken ARE aktivitesi benzerdi. Gruplar arasında Lp (a) düzeyleri de benzerdi. D vitamini ile PON arasında pozitif bir ilişki gözlemledik.

Oksidatif stresin bir göstergesi olan PON enzimi, LDL oksidasyonunu inhibe eder ve kardiyovasküler hastalıklara karşı korur.<sup>15,16</sup> Bu enzimin aktivitesi, oksidatif stresin artmasıyla azalır.<sup>17</sup> Tarcın ve arkadaşları D hipovitaminozunda PON aktivitesi ile endotel fonksiyonu arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Bu çalışmada D vitamini tedavisi sonrası PON aktivitesinde bir değişiklik olmasa da, PON aktivitesi ile endotel fonksiyonu arasındaki pozitif korelasyon nedeniyle D vitamininin oksidatif stresi azalttığı savunulmuştur.<sup>18</sup> D vitamini tedavisinden sonra PON ve ARE aktivitelerinde önceki değerlerle herhangi bir değişiklik saptanmadığını belirten çalışmalar da mevcuttur.<sup>19</sup> Bizim yaptığımız çalışmada daha önceki çalışmaların aksine D vitamini eksikliği olan hastalarda düşük PON-1 seviyeleri ve ayrıca D vitamini ile PON-1 arasında pozitif bir ilişki olduğunu gözlemledik. Daha önce D vitamini takviyesi ile yapılan randomize çalışmalardan elde edilen ilgili bulgular, muhtemelen küçük örnek boyutları, nüfus özelliklerindeki farklılıklar, D vitamini takviyesinin süresi, dozu ve formülasyonu nedeniyle çelişkili olacağı düşünülebilir. Yapılan bir çalışmada normal D vitamini düzeyine sahip olanlara göre D vitamini hipovitaminozu olan tip 2 diyabetik hastalarda serum okside-LDL seviyelerinin anlamlı derecede daha yüksek olduğu belirtilmiştir.<sup>20</sup> Plazma lipoproteinleri ile D vitamini ilişkisini araştırma amaçlı yapılan bir çalışmada da düşük D vitamini; yüksek trigliserid ile ilişkili bulunmuş, total kolesterol, LDL ve HDL düzeyleri açısından D vitamini eksikliği olan grup ile olmayan grup arasında fark bulunamamıştır.<sup>21</sup> Bu konuda yapılan bir diğer çalışmada da yine D vitamini <25 ng/mL olan grupta yüksek total kolesterol, trigliserid, LDL ve düşük HDL saptanmıştır.<sup>22</sup> Bu çalışmalara benzer şekilde olarak

biz de çalışmamızda D vitamini eksikliği olan hasta grubunda daha yüksek total kolesterol ve LDL, daha düşük HDL seviyeleri tespit ettik. HDL seviyesindeki bu düşüklük, HDL' ye bağlı bir enzim olan PON-1 aktivitesindeki azalmayı açıklayabilir. D vitamini takviyesi alımından sonra plazma Lp (a) seviyesinde azalma görmüşlerdir.<sup>23</sup> Bu çalışmanın aksine Qoi ve arkadaşları D vitamini ile Lp (a) arasında bir ilişki bulamamışlardır. Lp (a) referans değerleri arasındaki farkın fazla olması dolayısıyla patolojik durumlarda değerlendirmenin kolay olmadığı görülmektedir.<sup>24</sup> Çalışmamızın bulguları Qoi ve arkadaşlarının çalışmasındaki bulguları destekler nitelikteydi.

D vitamin düzeyini etkileyebilecek değişik faktörlerin önemli olduğu da bilinmektedir. Bunlar; güneşe maruz kalmama, yetersiz beslenme, cilt rengi, güneş kremi kullanımı, örtülü giysiler, obezite, beslenme alışkanlıkları ve D vitamini takviyesi geçmiş gibi diğer faktörlerdir ve bunlar tarafımızdan değerlendirilemedi.

Sonuç olarak, bu çalışmada, D vitamini eksikliği olan erişkinlerde antioksidan enzimlerden PON-1 aktivitesi kontrollere göre düşük bulunurken, ARE aktivitesinde ve serum Lp (a) düzeylerinde bir değişiklik saptanmamıştır. İleride daha geniş bir çalışma grubu ile çalışmanın planlanması ayrıca D vitamini takviyesi verilip takviye öncesi ve sonrası alınan plazmada D vitamini, PON, ARE ve Lp (a) 'nın ölçümü ile desteklenmesi gerektiğine inanılmaktadır.

## Kaynaklar

1. Palacios C, Gonzalez L. Is vitamin D deficiency a major global public health problem? *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014;144:138–145.
2. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007;357(3):266–281.
3. Wadhwa B, Relhan V, Goel K, Kochhar AM, Garg VK. Vitamin D and skin diseases: A review. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2015;81(4):344–355.
4. Rai V, Agrawal DK. Role of Vitamin D in Cardiovascular Diseases. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2017;46(4):1039–1059. doi:10.1016/j.ecl.2017.07.009.
5. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action And Pleiotropic Effects. *Physiol Rev*. 2016;96:365–408.
6. Jorde R, Grimnes G. Vitamin D and metabolic health with special reference to the effect of vitamin D on serum lipids. *Prog Lipid Res*. 2011;50:303–312.
7. Martins D, Wolf M, Pan D, Zashir A, Tareen N, Thadhani R, et al. Prevalence of cardiovascular risk factors and the serum levels of 25-hydroxyvitamin D in the United States: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med*. 2007;167:1159–1165.
8. Zittermann A, Gummert JF, Börgermann J. The role of vitamin D in dyslipidemia and cardiovascular disease. *Curr Pharm Des*. 2011;17:933–942.
9. Dong J, Wong SL, Lau CW, Lee HK, Ng CF, Zhang L, et al. Calcitriol protects renovascular function in hypertension by downregulating angiotensin II type 1 receptors and reducing oxidative stress. *Eur Heart J [Internet]*. 2012;33(23):2980–2990. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22267242>
10. Berridge MJ. Vitamin D cell signalling in health and disease. *Biochem Biophys Res Commun [Internet]*. 2015;460(1):53–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.01.008>.
11. White CR, Anantharamaiah GM. Cholesterol Reduction and Macrophage Function: Role of Paraoxonases. *Curr Opin Lipidol*. 2017;28(5):397–402. doi:10.1097/MOL.0000000000000444.
12. Kronenberg F. Prediction of cardiovascular risk by Lp(a) concentrations or genetic variants within the LPA gene region. *Clin Res Cardiol Suppl*. 2019;14(S1):5–12. doi: 10.1007/s11789-019-00093-5.
13. Katsiki N, Al-Rasadi K, Mikhailidis DP. Lipoprotein (a) and Cardiovascular Risk: The Show Must go on. *Curr Med Chem*. 2017;24(10):989–1006. doi: 10.2174/0929867324666170112111948.
14. Orsó E, Schmitz G. Lipoprotein(a) and its role in inflammation, atherosclerosis and malignancies. *Clin Res Cardiol Suppl*. 2017;12:31–37.
15. Kowalska K, Socha E, Milnerowicz M. Review: The role of paraoxonase in cardiovascular diseases. *Ann Clin Lab Sci*. Spring. 2015;45(2):226–233.
16. Chistiakov DA, Melnichenko AA, Orekhov AN, & Bobryshev YV. Paraoxonase and atherosclerosis-related cardiovascular diseases. *Biochimie*. 2017;132:19–27. doi:10.1016/j.bioci.2016.10.010.
17. Azarsiz E, Kayikcioglu M, Payzin S, Yildirim Sözen E. PON1 activities and oxidative markers of LDL in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Int J Cardiol*. 2003;91(1):43–51.
18. Tarcin O, Yavuz DG, Ozben B, Tellı A, Ogunc AV, Yuksel M, et al. Effect of vitamin D deficiency and replacement on endothelial function in asymptomatic subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(10):4023–4030. doi: 10.1210/jc.2008-1212.
19. Makariou SE, Elisaf M, Challa A, Tellis C, Tselepis AD, Liberopoulos EN. Effect of combined vitamin D administration plus dietary intervention on oxidative stress markers in patients with metabolic syndrome: A pilot randomized study. *Clin Nutr ESPEN*. 2019;29:198–202. doi:10.1016/j.clnesp.2018.10.004.
20. Javanbakht MH, Mohammady H, Fooladsaz K, Razzaghi M, Zarei M, Djalali M. Are serum levels of F2-isoprostane and oxidized-LDL related to vitamin D status in type 2 diabetic patients? A case-control study. *Rep Biochem Mol Biol*. 2016;5:26–32.
21. Kim MR, Jeong SJ. Relationship between Vitamin D Level and Lipid Profile in Non-Obese Children. *Metabolites*. 2019 Jun 30;9(7):125.
22. Yarpurvar A, Elmadfa I, Djazayeri A, Abdollahi Z, Salehi F. The Association of Vitamin D Status with Lipid Profile and Inflammation Biomarkers in Healthy Adolescents. *Nutrients*. 2020;12(2):590. doi: 10.3390/nu12020590.
23. Shab-Bidar S, Neyestani TR, Djazayeri A, Eshraghian MR, Houshiarrad A, Gharavi A, et al. Regular consumption of vitamin D-fortified yogurt drink (Doogh) improved endothelial biomarkers in subjects with type 2 diabetes: a randomized double-blind clinical trial. *BMC Med*. 2011;9:125. doi: 10.1186/1741-7015-9-125.
24. Ooi EM, Afzal S, Nordestgaard BG. Elevated remnant cholesterol in 25-hydroxyvitamin D deficiency in the general population: Mendelian randomization study. *Circ Cardiovasc Genet*. 2014;7(5):650–658.